

ВОЗДЕЙСТВИЕ ГЕТЕРОТРАНСПЛАНТАЦИИ НА НЕЙРОАМИНЫ В СТРУКТУРАХ КОСТНОГО МОЗГА

ВОРОБЬЕВА О.В., ЛЮБОВЦЕВА Л.А.

IMPACT ON GETEROTRANSPLANTATION NEYROAMINE IN STRUCTURES MARROW

VOROBEEVA O.V., LYUBOVITSEVA L.A.

ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н.Ульянова, кафедра общей и клинической морфологии и судебной медицины, Чебоксары, Россия (428000, Россия, Чебоксары, Московский проспект, 45).

Трансплантация костного мозга используется для лечения многих онкологических заболеваний. Целью исследования явилось изучить динамику функционирования нейромедиаторов во временном аспекте при гетеротрансплантации костного мозга.

После гетеротрансплантации костного мозга гранулярные люминесцирующие и тучные клетки постепенно перестают синтезировать нейроамины, разрушаются, а новые популяции не образуются. Появляются гистаминположительные плазмобласты. При исследовании корреляционных связей отмечено, что чужой костный мозг вызывает супрессию синтеза биогенных аминов и распад клеток-регуляторов (гранулярных люминесцирующих и тучных клеток), постепенное опустошение костномозговых клеток от нейроаминов, быстрое старение и их гибель, приводящей к изменению дифференцировки клеток в костном мозге. Возникает жировое перерождение костного мозга.

Ключевые слова: гетеротрансплантация костного мозга, катехоламины (КА), серотонин (СТ), гистамин, гранулярные люминесцирующие клетки (ГЛК), тучные клетки (ТК), мегакариоциты (МКЦ).

Bone marrow transplantation is used to treat many cancers. The aim of the study was to examine the dynamics of the functioning of the neurotransmitters in the temporal aspect in the geterotransplantatsii bone marrow.

After geterotransplantatsii luminescent granular bone marrow and mast cells gradually stop synthesizing neyroaminy are destroyed and new populations are not formed. There are

gistaminpolozhitelnye plazmoblasty. In the study of correlations observed that alien bone marrow suppresses synthesis of biogenic amines and the disintegration of cells controllers (granular luminescent and mast cells), the gradual depletion of bone marrow cells from neyroaminov, rapid aging and death, which leads to a change in the differentiation of cells in the bone marrow. There is a fatty degeneration of the bone marrow.

Keywords: bone marrow geterotransplantation, catecholamines (CA), serotonin (ST), histamine, granular luminescent cells (HCA), mast cells (MC), megakaryocytes (MCC).

Введение. В последние годы для лечения онкологических, гематологических заболеваний и при облучении используется трансплантация костного мозга [1, 2, 4]. Однако, иногда невозможно пересадить свой собственный костный мозг и тогда прибегают к пересадке чужеродного. Было бы заманчиво, если бы можно было пересаживать костный мозг не от человека, а от других видов животных. Известно, что в этом случае свой костный мозг погибает, но неизвестно что в это время происходит с нервной системой, с клетками, обеспечивающими синтез веществ, отвечающих за эту перестройку, т.е. с нейроаминами. По данным литературы кроветворение и развитие иммунной реакции в организме сопровождается значительными изменениями содержания СТ, КА, гистамина и других биологически активных веществ как в крови, так и в тканях [5]. При этом происходит нарушение дифференцировки клеток при их созревании [3].

Нами была проведена серия экспериментов с пересадкой костного мозга от кошки мышам.

Цель исследования - изучить динамику распределения нейромедиаторов во временном аспекте при гетеротрансплантации костного мозга.

Материал и методы исследования. Работа

была выполнена на 45 мышах, которые были разделены на три группы:

1 группа – интактные мыши без введения (n=15)

2 группа – контрольная группа мышей (n=15), у которых изменение нейроминов происходит до 35 минут после введения физиологического раствора в дозе 0,1 мл. Вследствие этого материал для изучения брали с 40 мин после введения костного мозга.

3 группе производили гетеротрансплантацию костного мозга. Животным (n=15) в хвостовую вену вводили суспензию костного мозга, полученную из бедренной кости кошки. Взятый из бедренной кости 0,1 мл костного мозга помещали в 3 мл физиологического раствора и тщательно размешивали. 1 мл суспензии костного мозга вводили в хвостовую вену. Другая часть объема полученной суспензии шла на подсчет числа клеток в полученной гетерогенной популяции клеток костного мозга с помощью проточного спектрофотометра «Ф-2000» с применением флуоресцеина изотиоцианата (FITC). Число клеток в 1 мл суспензии было равно $2,1 \cdot 10^8$.

Все процедуры по уходу осуществлялись по нормам и правилам обращения с лабораторными животными [1]. Белые мыши содержались в обычных условиях вивария, в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 267).

В процессе решения поставленных задач использовались следующие методы: люминесцентно-гистохимический метод [7] для выявления гистамина. Для избирательного выявления КА и СТ применялся люминесцентно-гистохимический метод [6]. Количественно уровень КА, СТ и гистамина в структурах оценивались с помощью цитоспектрофлуориметрии. Для качественной и количественной характеристики тучных клеток после их изучения по Кроссу, Евена, Роста (1971) и цитоспектрофлуориметрии, обрабатывали полихромным толуидиновым синим по А. Унна. Статистическую достоверность определяли критерием Стьюдента (t). Полученные цифровые данные обрабатывались статистически по специально разработанной программе «Statistica», версия 6 (Copyright@Stat Soft, 19842001, ИПЧИ 31415926535897).

Результаты исследования и их обсуждение. Через 40 минут выявлено увеличение содержания КА и СТ в ГЛК, но число их резко снижено. Выявлено полторакратное увеличение числа ТК. Содержание КА в них повышено, а СТ снижено. Выявляется дальнейшее снижение

числа гистаминсодержащих ГЛК, в них остается люминесцирующими 1 – 2 гранулы. Происходит истощение аминов в гранулах этих клеток. Эритроциты полностью люминесцируют, т.е. содержат в себе гистамин в отличие от интактных мышей, т.е. излишки межклеточного гистамина адсорбируются гликокаликсом этих клеток. Снижается содержание гистамина в МКЦ, гистамин определяется в ядрах плазмоцитов.

Через 60 мин содержание КА и СТ в ГЛК увеличивается в 2,5 раза. Повышается содержание КА в ТК. Выявляемость адренергических нервных волокон остается повышенной. Они определяются по ходу сосудов, около гемопозитических островков размножения внутри которых расположены моноаминоциты. ГЛК содержат также увеличенное количество гистамина, но ниже, чем у интактных мышей. Повышается содержание гистамина в клетках эозинофильного и нейтрофильного рядов. У нейтрофилов гистамин определяется в основном по периферии ядра в виде светящихся участков.

Продолжают фиксироваться эритроциты, содержащие гистамин. Большая часть МКЦ содержит гистамин в повышенном в 10 раз количестве. В ТК повышается содержание КА.

При исследовании костного мозга через 4 часа происходит снижение числа тучных клеток в 1,7 раза с повышением в них КА на 4,8 усл. ед. ГЛК – единичны, содержание СТ в них понижено, однако количество КА остается выше нормы. Выявляются оксифильные МКЦ, зрелые структуры. Продолжают определяться нейтрофилы с повышенным количеством в них СТ.

Продолжается резкое снижение содержания гистамина во всех структурах костного мозга, за исключением ядер клеток эритроидного и эозинофильного рядов.

В ГЛК гистамин обнаруживается в единичных гранулах. Появляются крупные клетки макрофагального типа не определенной формы, внутри которых находятся эритроциты, содержащие гистамин. Происходит резкое снижение числа выявляемых по данному методу исследования гистаминсодержащих тучных клеток от 1 до 2 клеток на весь препарат. Содержание гистамина в клетках эозинофильного ряда достигает своего максимума, а в базофильных МКЦ содержание гистамина снизилось.

Через сутки после гетеротрансплантации костного мозга тучные клетки, начинают определяться около липоцитов, в которых снижено содержание СТ и повышено количество КА. Появляются мелкие клетки, с зернистостью и бобовидным ядром. Появляется новая генерация макрофагов, располагающихся в основном вокруг жировых клеток. АПУД клеток очень мало, до 4,1

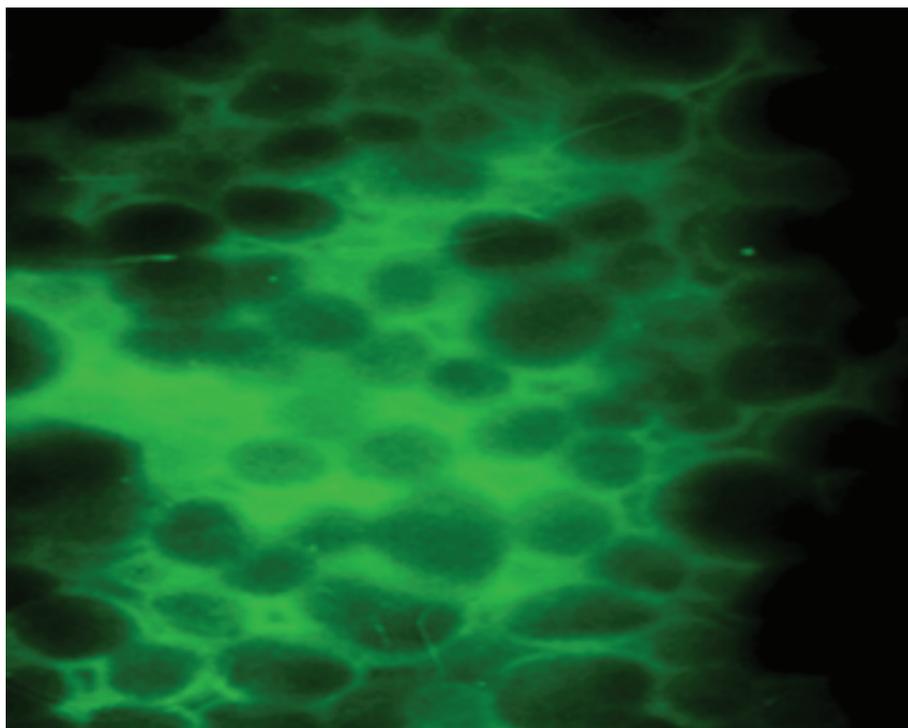


Рис. 1. Срез костного мозга через 1 сутки после гетеротрансплантации костного мозга. Выход нейрофиламентов из клеток. Метод Кросса. МЛ-6. Ув. 400.

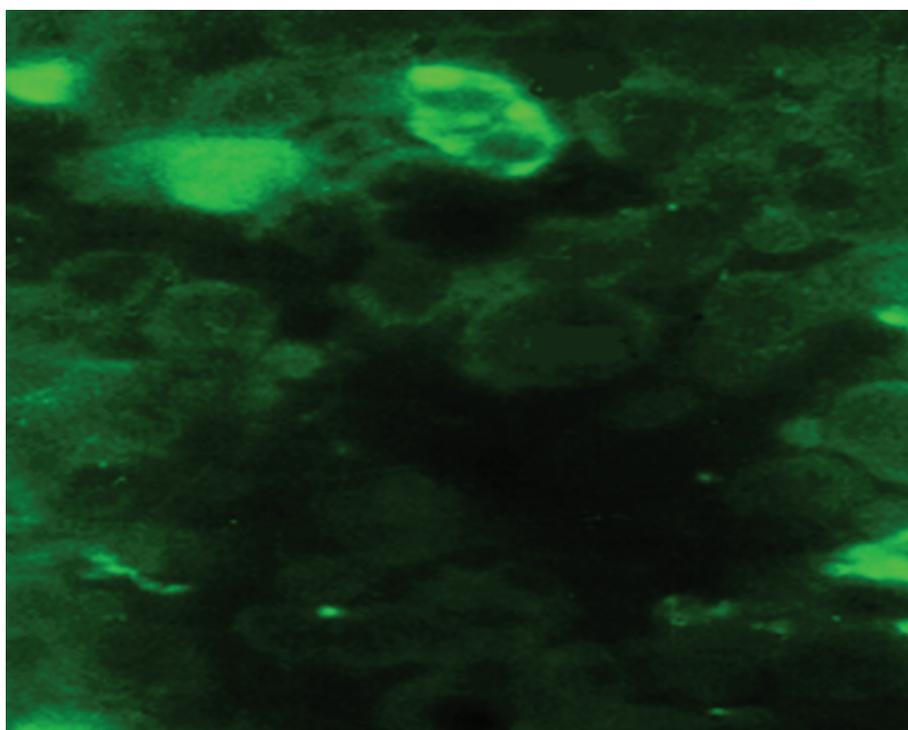


Рис. 2. Срез костного мозга через 2 суток после гетеротрансплантации костного мозга. Метод Кросса. МЛ-6. Ув. 400.

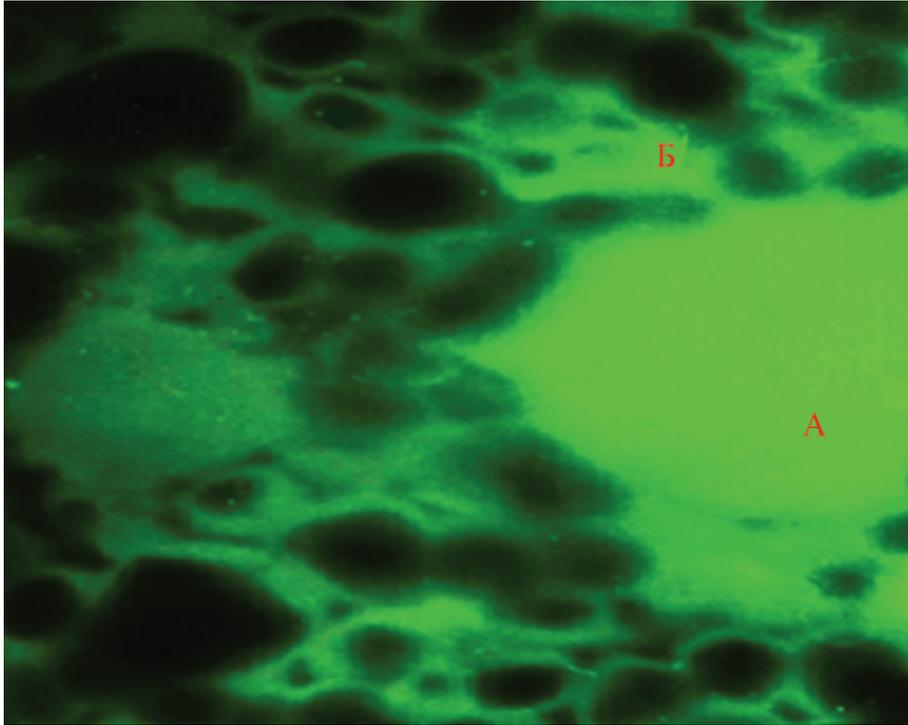


Рис. 3. Срез костного мозга через 4 часа после гетеротрансплантации костного мозга: А - МКЦ; Б - ГЛК. Метод Кросса. МЛ-6. Ув. 400.

на весь препарат. Такие клетки имеют высокое содержание гистамина более чем в 3 раза.

Около гемопоэтических островков размножения и липоцитов обнаруживаются отдельные фрагменты нервных волокон.

При исследовании на гистамин выявляется, что его содержание в структурах остается сниженным. В ГЛК определяются единичные люминесцирующие гранулы с резко сниженным содержанием гистамина. Появляются гистамин-положительные плазмобласты.

При исследовании коррелятивных связей в ГЛК и тучных клетках после гетеротрансплантации костного мозга на всех этапах можно видеть, что связи становятся резко отрицательными. Дольше всех сохраняются связи между СТ и гистамином до 40 минут после гетеротрансплантации. Ко 2 суткам все связи отсутствуют вследствие опустошения клеток от нейроаминов.

Можно предположить, что под воздействием чужого костного мозга ГЛК и ТК перестают синтезировать нейроамины, разрушаются, а новые популяции не образуются. Происходит постепенное опустошение собственных клеток от нейроаминов, быстрое старение и гибель.

Серотониновый индекс вначале становится ничтожно малым, а в дальнейшем вырастает до 2 в ТК и до 5,8 в ГЛК. Происходит полная супрессия действия нейроаминов на гемопоэтические

клетки.

Через 2-е суток после гетерогенной пересадки костного мозга цельные ГЛК не определяются. Люминесцируют лишь единичные гранулы. В отдельных гранулах содержание КА повышено, а СТ - снижено.

Регистрируется сниженное содержание гистамина в гемопоэтических клетках. В ГЛК люминесцируют единичные гранулы, образующие поля из таких гранул, с полным распадом. Увеличивается число люминесцирующих липоцитов. В них гистамин определяется в ядрах, оболочках этих клеток и части цитоплазмы вокруг ядра. Около липоцитов располагаются слабо люминесцирующие тучные клетки.

Таким образом, можно предположить, что после гетеротрансплантации костного мозга ГЛК и ТК перестают синтезировать нейроамины, разрушаются, а новые популяции не образуются.

Выводы:

1. При гетеротрансплантации костного мозга в костном мозге до часового срока наблюдается выброс нейроаминов их гранулярных люминесцирующих и тучных клеток в межклеточное пространство. Начиная с 1 ч срока, происходит супрессия синтеза нейроаминов в клетках-регуляторах (тучных и гранулярных люминесцирующих) и нарушение размножения и дифференцировки костномозговых клеток.

Таблица.

Корреляционные взаимодействия нейроминов в гранулярных люминесцирующих и тучных клетках при ксенотрансплантации

структуры	взаимодействия	Сроки после трансплантации				
		интактные	40 мин	4 часа	1 сутки	2 сутки
ГЛК	КА/СТ	-0,9	-0,7	-0,06	0,3	-
	СТ/гистамин	0,4	0,9	0,09	-0,2	-
	КА/гистамин	-0,5	0,8	0,6	0,6	-
	Серотониновый индекс	0,9	0,9	0,06	5,8	-
ТК	КА/СТ	0,9	0,5	-0,3	-0,5	-
	СТ/гистамин	0,8	-0,7	0,4	0,98	-
	КА/гистамин	-0,7	-0,7	0,7	0,5	-
	Серотониновый индекс	1,09	2	0,3	0,5	-

2. После гетеротрансплантации костного мозга, начиная с 1 суток происходит образование белых жировых клеток, вокруг которых обнаруживаются мелкие молодые тучные клетки и макрофаги, способствуя этому перерождению.

3. Коэффициент корреляции в гранулярных люминесцирующих и тучных клетках становится отрицательным между всеми нейроминами. Происходит полное разрушение всех корреляционных связей.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гривцова Л.Ю., Тупицын Н.Н. Субпопуляции трансплантируемых стволовых кроветворных клеток / Онкогематология. - №1. - Т.8. - 2006. - С.65-71.
2. Зубаровская Л.С., Фрегатова Л.М., Афанасьев Б.В. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при гемобластозах / Клиническая онкогематология: руководство для врачей. - 2007. - С.912.
3. Любовцева Л.А., Любовцева Е. В. Биоаминсодержащие структуры костного мозга при системных заболеваниях крови // Ж. Морфология. - 2012. - №3. - С. 95-96.
4. Савченко В.Г. Трансплантация костного мозга в онкогематологии // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. - №4. - Т.3. - 2010. - С. 478- 479.

5. Ставинская О.А. Роль гистамина и серотонина в поддержании иммунного гомеостаза / О.А. Ставинская // Национальная конференция «Аллергология и клиническая иммунология - междисциплинарные проблемы». - Российский Аллергологический Журнал. - 2008. - №1. - С. 283-284.

6. Falck B. et al. J. Histochem. Cytochem. - 1962. - №10. - Vol. 348-354.

7. Cross S.A., Ewen S.W., Rost F.W. A study of methods available for cytochemical localisation of histamin by fluorescence induced with o-phthaldehyde or acetaldehyde. Histochem J. 1971; 3: 471-476.

Авторская справка:

1. Воробьева Ольга Васильевна, к.м.н., доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н.Ульянова»; адрес для переписки: б-р Миттова, д.41, кв.33, Чебоксары, 428038 Тел.: +7937373 42 23; e-mail: olavorobeva@mail.ru

2. Любовцева Любовь Алексеевна, д.б.н., профессор, заведующая кафедрой общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н.Ульянова». Тел. 89061336824.